

# Digitális patológiai eszközök alkalmazása oktatásban, rutin diagnosztikában és kutatásban

Doktori tézisek

**Dr. Fónyad László**

Semmelweis Egyetem

Klinikai Tudományok Doktori Iskola



Konzulens: Dr. Molnár Béla, D.Sc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:

Dr. Doros Attila, Ph.D. egyetemi docens

Dr. Szmola Richárd, Ph.D. adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Tímár József, D.S.c. egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Deák Pál Ákos, Ph.D. egyetemi tanársegéd

Dr. Simon Károly, Ph.D., osztályvezető főorvos

**Budapest**

**2015**

## I. BEVEZETÉS

A digitális állóképek használata a patológiában igen elterjedt, mivel ezek könnyen előállíthatóak, egyszerűen tárolhatóak és megoszthatóak másokkal. Az első telepatológiai hálózatokban ilyen állóképeket használtak a diagnózis felállítására vagy konzultáció során. Ennek a módszernek a hátránya (a minta mindössze néhány látómezője vizsgálatának lehetősége) egyértelmű volt és diagnosztikai tévedésekhez vezetett. Később úgynevezett hibrid rendszereket alkalmaztak. A mikroszkópra kamerát illesztettek, aminek a képe valós időben jelent meg a távoli munkaállomáson dolgozó szakértő monitorán. A módszerrel pontosabb diagnosztikai eredmények születtek, azonban azzal, hogy a küldő állomáson is folyamatos asszisztenciára és az eszköz felügyeletére volt szükség, az igazi siker elmaradt.

A későbbi fejlesztések legfontosabb pontja a teljes metszet digitalizálás (szkennelés) megjelenése volt. Az évek során kifinomultabbá váló digitális patológiai eszközök egyre szélesebb körben kerültek alkalmazásra a patológiai képzésben, a rutin diagnosztikában és speciális kutatási területeken.

A digitális mikroszkópiának a patológia oktatásban történő elterjedése az Egyesült Államokból indult. Az iowai Egyetem patológusai ún. „virtuális metszetsort” (virtualslidebox) állítottak össze és tettek ingyenesen elérhetővé az interneten. A munkacsoport hallgatói elégedettséget mérő vizsgálatai a technika nagyfokú elfogadását igazolták, valamint kimutatták, hogy hosszú távon feltétlenül költséghatékonyabb a digitális metszetek használata az oktatásban.

Digitális mikroszkópia rutin diagnosztikában való alkalmazása kapcsán meg kell említeni, hogy a kezdeti fejlesztések elsősorban konzultációs platformként szolgáltak, központi diagnosztikai egységektől, nagyobb kórházaktól távol eső területek orvosainak. Az első ilyen alkalmazással, 1968-ban a bostoni Logan repülőtér és a Massachusetts General Hospital (MGH) között kialakított kapcsolatban, klinikai információk cseréje mellett, perifériás vérkép keneteinek és vizelet minták fekete-fehér képét osztották meg egymással a résztvevők. Ebben az időben született meg a telemedicina fogalma is, aminek a telepatológia, más szakterületek (teleradiológia, teledermatológia, stb) mellett, csak egy ága volt. A hetvenes évek elejétől figyelhetők meg a szakirodalomban a témához köthető publikációk, melyek azonban sokáig észrevétlenek maradtak a tudományos életben. A nyolcvanas évek közepétől azonban, több munkacsoport kezdett dolgozni kifejezetten telepatológiai rendszerek

kifejlesztésén. Ezek közül az egyik, médiafigyelmet is kiváltó kísérlet, 1986-ban, Washingtonban zajlott. Az azóta megszűnt AFIP (Armed Forces Institute of Pathology) patológusai fagyasztott minta vizsgálatát végezték a texasi El Pasóban elhelyezett távvezérelt mikroszkóp irányításával. A fenti intézetek mellett, úttörőnek számító és ma is a digitális patológia egyik akadémiai központja Chicagóban van. A chicagói munkacsoport, a területen máig legtöbbet idézett kutató, Ronald Weinstein vezetésével, 1986-ban, dinamikus képátvitelre alkalmas, robotizált mikroszkópot épített. A kilencvenes évek elejétől egyre több validációs vizsgálat indult a meglévő rendszerek biztonságos használatának felmérésére és nem sokkal később több helyen klinikai gyakorlatban is használni kezdtek telepatológiai eszközöket. Dunn és munkatársai a milwaukeei Veterans Affairs Medical Centerben alakítottak ki telepatológiai állomást, Európában Eusebi és munkatársai kezdtek konzultációs tevékenységet statikus telepatológia alkalmazásával. Később egyre gyakrabban szerepeltek a validációs vizsgálatokban a teljes metszet digitalizációt használó alkalmazások. Ezek általában 94-98% körüli diagnosztikus egyezéstről számoltak be, a „gold standard” optikai mikroszkóphoz viszonyítva. A vizsgálatok újra és újra hasonló eredményeket adtak, annak ellenére, hogy különböző digitális mikroszkópokat, különböző monitorokat, különböző eredetű mintákat vizsgáltak, különböző tapasztalatú patológusok. Az utóbbi időben fogalmazódtak meg azok a vélemények, miszerint az eltűnni nem akaró eltérés oka, nem is a digitális patológia jellemzője, hanem a nem standard preanalitikai folyamatok következménye. A vázolt felvetés azért kényes, mert a teljes patológiai munkafolyamat kritikáját fogalmazza meg, ami messze túlmutat egy új eszköz technika bevezetésén.

A digitális mikroszkópia adta lehetőségeket a kutatás területén felsorolni szinte lehetetlen. Egy ilyen terület a háromdimenziós szöveti rekonstrukció is. Az orvosi képalkotásban a különböző kétdimenziós (2D) technikák alkalmazása lényegesen elterjedtebb, mint a háromdimenziós (3D) módszereké. Jó példák erre a röntgenfelvétel, ultrahang vagy a patológiai munkában a hagyományos üvegmetszetek. A fenti állítás a digitális képalkotás megjelenése mellett is igaz (digitális radiológia, digitális mammográfia, digitális metszetek, stb.). A digitalizáció megjelenése azonban lehetővé tette a 2D-s képek 3D-ba rendezését. A radiológia területén a 3D-s képalkotás előnyei a betegségek felfedezésében, stádiumok felmérésében elvitathatatlanok. A patológiai 3D-s képalkotás, különösképpen a digitális metszetek felhasználásával, igen új területnek számít és a technika alkalmazásának hasznos területeit csak az utóbbi időben kezdik kutatni.

## **II. Célkitűzések**

Az egyetemi hármasság – oktatás, betegellátás, kutatás – legmesszemenőbb szem előtt tartása mellett a következő célkitűzéseink voltak:

- A digitális mikroszkópia bevezetése az orvosegyetemi patológia oktatásba Magyarországon, és a hallgatók számára nyitottan hozzáférhető digitális metszettár létrehozása.
- A digitális mikroszkópia alkalmazása a rutin szövettani diagnosztika során, a módszer validálása és hagyományos optikai mikroszkópiával való összevetése, valamint a megbízhatóságot veszélyeztető hibaforrások felderítése.
- Háromdimenziós szöveti rekonstrukciós vizsgálatokkal megfelelő és pontos kísérletes módszer megalkotása a neointimális elváltozások súlyosságának felmérésére, krónikus allograftvasculopathia (CAV) során, egérszív transzplantációs modellben.

### III. Módszerek

A Mirax és Panoramic alkalmazások mind a 3DHISTECH Kft. (Budapest, Magyarország - 3DH) termékei.

#### III.1. Digitális mikroszkópia bevezetése az orvosegyetemi patológia oktatásba

##### *„Pilot study” és infrastrukturális fejlesztés*

Intézetünkben digitális mikroszkópot oktatásban először a 2006/2007-es tanévben alkalmaztunk egy „pilot study” keretében. 2007. nyarán kialakításra került egy digitális kórszövettani oktatóterem, ahol 40 személyi számítógépet helyeztünk el, melyeket ultragyors belső optikai hálózaton kötöttük össze. MiraxViewer (3DH) metszet kezelő program és MiraxSlide Server (3DH) folyamatosan frissített verzióit használtuk. A használt metszetek digitalizálása MiraxScan 1.11 (3DH) eszközzel történt (Hitachi 3-chip kamera, 20X Plan-Apochromat objektív, 0,63-as numerikus apertura).

##### *Prospektív információgyűjtés, feldolgozás és hibajavítás, három éves periódusban*

A digitális metszetek folyamatos elérésének kialakítása lehetővé tette a hallgatói aktivitás és rendszerhasználat objektív értékelését, az internetes felület látogatottsági adatainak statisztikai elemzésével. A gyakorlati vizsgák alkalmával az E-School (3DH) nevű szerver alapú alkalmazását használtuk. A digitális mikroszkóp használatának oktatói és hallgatói véleményezésére kérdőíves módszert alkalmaztunk. Főbb szempontok a kialakított rendszer felhasználó barátságának felmérése, gyorsaságának elemzése és képminőségre vonatkozó kérdések voltak. Az eredmények összegzése és összehasonlíthatósága érdekében, egy kalkulált, úgynevezett *általános elégedettségi indexet* használtunk. A válaszolók által a kérdésekre adott pontszámok és a kérdésekre adható maximális pontszámok arányát neveztük *attitűdnek*.

#### III.2. A digitális mikroszkópia alkalmazása a rutin szövettani diagnosztika során

##### *A vizsgálatban résztvevők*

Hét tapasztalt és egy fiatal szakorvos önkéntes alapon vett részt a vizsgálatban. A szenior patológusok különböző szakterületek specialistái voltak. Két asszisztens a metszetek szkennelését, valamint az alkalmazott adatbázis és a hálózat kezelését végezte.

*Esetkiválasztás*

Intézetünk archivumából összesen 306 db. rutin eset (1858 metszet) került kiválasztásra. Az eredeti diagnózis adása és a digitális diagnózis felállítása között legalább 24 hónap telt el. Az esetek kiválasztása random módon történt a SNOMED-L/M kódok alapján.

*Hardware és software eszközök*

A metszetek digitalizálása MiraxScan 1.11 (3DH) eszközzel történt (Hitachi 3-chip kamera, 20X Plan-Apochromat objektív, 0,63-as numerikus apertura). Adatkezelésre a 3DH DataBase (DB) programját használtuk. A DB és a patológiai informatikai rendszer között kapcsolat nem állt fenn, az esetek kódszámmal voltak ellátva, így a digitális diagnózist adó orvos az eredeti leírásokhoz és diagnózisokhoz nem férhetett hozzá. A kiértékeléshez a patológusok asztali számítógépeiket használták.

*A kiértékelési folyamat*

A patológusok leírásokat és diagnózisokat adtak az egyes esetekhez és kitöltöttek egy értékelő lapot. Konszenzus ülésen az eltérően diagnosztizált eseteket újraértékeltek. A diagnosztikus hibák súlyosságának mértékét a klinikai fontosság függvényében, aszerint állapítottuk meg, hogy az eltérő diagnózis eltérő kezelési stratégiát jelentene-e, illetve van-e prognosztikai különbség az eltérő diagnózisok között. Vizsgáltuk továbbá, hogy jelzett-e diagnosztikus bizonytalanságot a patológus, akár rosszabb képminőség, akár diagnosztikus komplexitás miatt.

## III.3. Háromdimenziós szöveti rekonstrukciós vizsgálatok

*Vizsgálati anyag*

Vizsgálatainkhoz egérszív transzplantációs modellt alkalmaztunk. A CAV kiváltására korábban leírt, a dolgozatban részletezett módszereket alkalmaztuk.

*A szövettani minták kezelése*

A graftsziveket 10%-os formalinban fixáltuk (A, B minta – transzplantált szívek, C minta – kontroll szív). Az A- és a B mintákat magas olvadáspontú paraffinba ágyaztuk (58°C,

Tissue-Prep, FisherScientific, Idaho, USA), a szövettani sorozatmetszéshez használt automata (Kurabo AS-200S AutomatedTissueSectioning System, KuraboIndustries, Osaka, Japan) előírásai szerint. A C mintát hagyományos parrafinba ágyazás után manuálisan metszettük. A metszetek egységesen 4µm vastagságúak, HE-festettek voltak.

#### *Metszet digitalizáció és 3D-rekonstrukció*

A metszeteket a PannoramicScan (3DH) eszközzel digitalizáltuk (Plan-Apochromat 20x objektív, 0.63x kamera adapter, 1x optovar nagyító, Hitachi HV F22CL kamera). A fluorescensscannelés HXP120 fluorescens fényforrással felszerelt PannoramicScannerrel végeztük. A 3D-rekonstrukcióhoz a µCore 3D programot használtuk (MicroDimensions, München, Németország). A program segítségével virtuális metszési síkokat készítettünk és ezeken számítottuk a neointimális indexet (NI: a neointimális terület és a neointimális plusz lumen terület hányadosának százszorosa. Az érték a CAV lézió súlyossági fokának jelzője.), valamint volumetriás vizsgálatokkal neointimális volumen indexet számoltunk.

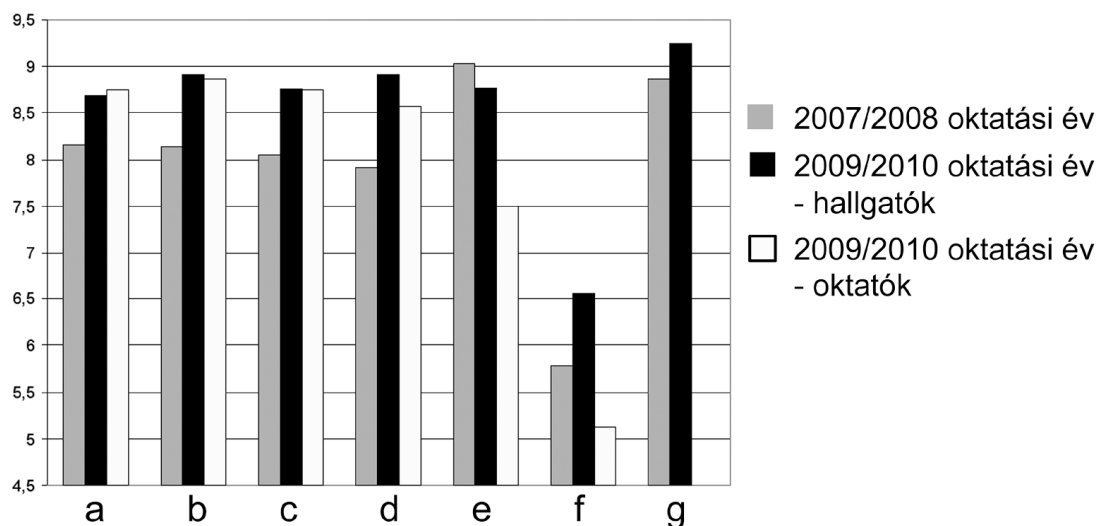
#### *Statisztikai módszerek*

Az analízishez az IBM SPSS Statistics 20 Software Csomagot használtuk. (IBM, Inc., Armonk, NY, USA). Összefüggő folyamatos változók esetében párosított t-tesztet alkalmazunk. Független folyamatos változók közötti statisztikai elemzéshez t-tesztet és általános lineáris multivariancia tesztet használtunk. A p értékeket 0.05 alatt fogadtuk el szignifikánsnak.

## IV. Eredmények

### IV.1. A digitális mikroszkópia bevezetése az orvosegyetemi patológia oktatásba

Kérdőíves vizsgálatokkal megállapítottuk, hogy mind a hallgatók, mind az oktatók körében hamar elfogadottá vált a digitális metszetek használata kórszövettan oktatásban (1. Ábra). Látható, hogy az oktatók kritikusabbak voltak a metszetminőség kérdésében a hallgatóknál. Megfigyeltük, ahogy az egyes oktatók attitűdje a digitális mikroszkópiához növekszik, úgy növekszik a csoportjukba tartozó hallgatók attitűdje is.



#### 1. Ábra. A digitális mikroszkóp hallgatói és oktatói véleményezése.

Lehetséges válaszok 1-10 közötti skálán mozogtak, ahol a nagyobb osztályzattal a digitális mikroszkóp, a kisebb osztályzattal a hagyományos mikroszkóp preferálását lehetett jelezni. (5-ös érték a nincs különbség a módszerek között jelentéssel bír.) A- Mennyire szerettél a digitális mikroszkóppal dolgozni? B- Összehasonlítva optikai mikroszkóppal, mennyire szerettél digitális mikroszkóppal dolgozni? C- Mennyire találtad felhasználóbarátnak a digitális mikroszkópot? D- Összehasonlítva optikai mikroszkóppal, mennyire felhasználóbarát a digitális mikroszkóp? E- Milyenek értékeled a digitális metszetek képminőségét? F- Milyenek értékeled a digitális metszetek kezelésének a sebességét? G- Mennyire volt segítségédre a metszetek otthoni elérése a vizsgára való felkészülésben? (1-10: semennyire – nagy mértékben) (2007/2008 évben a kérdőívet csak hallgatók töltötték ki.)

A digitális metszeteket tároló szerver látogatási adatainak vizsgálata során megállapítottuk, hogy a hallgatók 97-98%-a legalább egyszer felkereste és használta az oldalt, a vizsgálati perióduson belül csúcsnak számító 2010. nyári vizsgaidőszakban napi 10.000 oldalletöltést regisztráltunk.



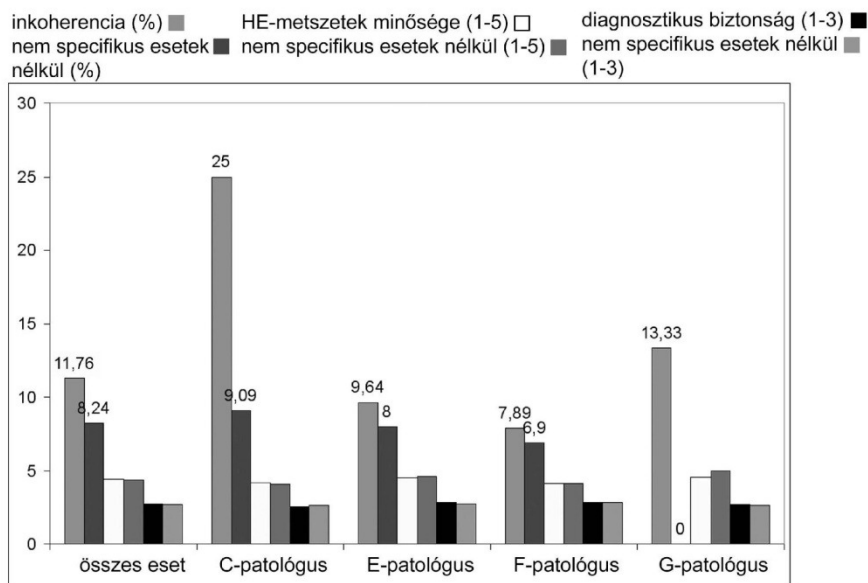
## IV.2. A digitális mikroszkópia alkalmazása a rutin szövettani diagnosztika során

Hatvanhárom esetben (20,6%) találtunk különbséget az optikai mikroszkópon született diagnózis (OD) és a digitális mikroszkópon született diagnózis (DD) között. Ezeket diszkordáns eseteknek neveztük. A konszenzus ülések alkalmával ezeket az eseteket újraértékeltek és arra jutottunk, hogy 36 esetben (11,7%) az OD, 27 esetben (8,82%) a DD adta a helyes diagnózist (1. Táblázat). Előbbieket inkoherens eseteknek neveztük. Az eset bonyolultságából adódó diagnosztikus bizonytalanságot 48 esetben (15,7%) jeleztek a vizsgáló orvosok. Ezek olyan esetek voltak, amiket a rutin munka során konzultációra vittek volna. Rossz képminőségből adódó bizonytalanság 15 esetben (4,9%) jelentkezett.

1. Táblázat. Diagnosztikus hiba súlyossága

Típus	Leírás	esetszám (n=36)
Típus I.	nem releváns inkoherencia - jelzett bizonytalanság	5
Típus II.	nem releváns inkoherencia - nem jelzett bizonytalanság	7
Típus III.	releváns inkoherencia - jelzett bizonytalanság	17
Típus IV.	releváns inkoherencia - nem jelzett bizonytalanság	7

Megvizsgáltuk a patológusok tapasztalata és a diagnosztikus eredmények közötti összefüggést, továbbá, azt hogy a patológus kompetenciája egyes területeken hogyan befolyásolja az értékeket (2. Ábra). Az így értékelt esetek közül kizártuk azokat, amiknek DD-t nem a területen jártas patológus adott. Az inkoherens esetek száma 30%-kal, aIV-es típusú hibák előfordulása 23%-kal csökkent. A legtapasztaltabb patológus (PathG) esetében a nem terület specifikus esetek kiválogatása után hibátlan DD eredményt kaptunk. Ebben a körben a második legjobb eredményt a második legtapasztaltabb patológus érte el (PathB).



## 2. Ábra. A patológus kompetenciájának a szerepe.

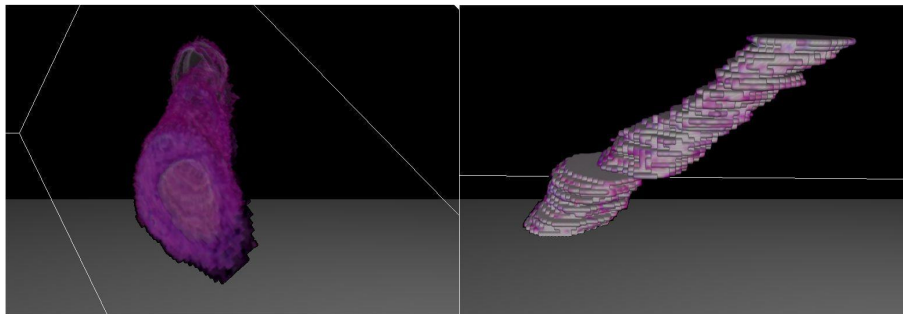
Az ábrán azok a patológusok szerepelnek, akik szakterületükön kívül eső eseteket is értékelték. Az egyes patológusokhoz rendelt esetek közül kizárva azokat, amik nem szakterület specifikusak voltak, jobb koherencia értékek mutatkoztak. Nem volt lényeges eltérés az így értékelt eset halmazban a diagnosztikus biztonság és a HE-metszetek minősége között.

## IV.3. Háromdimenziós szöveti rekonstrukciós vizsgálatok

Digitális metszetek felhasználásával sikeresen rekonstruáltuk egerek koronáriáinak virtuális keresztmetszeteit. Ötvenhat különböző anatómiai régióban, a hagyományos kétdimenziós és rekonstruált kétdimenziós metszeteken 112 mérést végeztünk. Az eredmények statisztikailag különbözőek voltak a két módszerrel [ $t(55)=-5.343$ ,  $p=2.0e-06$ ]. Mind a konvencionális, mind a rekonstrukciós modellel magasabb NI-értékeket számoltunk a koronáriákproximálisabb, mint disztálisabb szakaszain. Konvencionális módszerrel  $86.31 \pm 12.06$  és  $72.26 \pm 10.00$  NI értékeket ( $p=1.7e-05$ ), a rekonstruált mintákon  $88.71 \pm 10.28$  és  $88.51 \pm 10.03$  ( $p=0.940$ ) értékeket kaptunk a proximális, illetve disztálisabb szakaszokon. A B-minta esetében az eredeti metszési síkok a koronária görbületére párhuzamosan futottak, NI számítás szükségszerűen pontatlan lehetett csak a konvencionális módszerrel. A pontatlanságot, illetve a rekonstrukciós módszer hatékonyságát ennél a mintánál, a koronáriadisztálisabb szegmensén végzett mérések esetében statisztikailag szignifikáns módon tudtuk kimutatni (konvencionális NI  $70.62 \pm 10.35$  vs. rekonstruált NI  $97.80 \pm 1.39$ ,  $p<0.001$ ). Ezt az eltérést a hagyományos vizsgálati módszerrel kimutatni nem lehetett volna. Kimutatható volt továbbá, hogy a rekonstrukciós minták NI értékei kisebb szórást mutatnak,

ami tovább erősíti a feltételezésünket, hogy módszerünk az eddig ismert megközelítéseknél pontosabban használható, és a kapott eredmények megbízhatóbbak.

A minták 3D-s rekonstrukciója után egyes részek térfogatának mérésére is lehetőség volt. (3. Ábra) Az eredeti NI számítását alapul véve, megalkottuk a Neointimális térfogat index (NVI) fogalmát. Ez az index, a neointimális térfogat és a neointimális, plusz lumen térfogat hányadosa, százzal szorozva. További volumetriás összehasonlító vizsgálatokat nem végeztünk.



**3. Ábra. 3D rekonstruált érszakaszban a neointima és a lumen megjelenítése. A-minta.**

## V. MEGBESZÉLÉS

A képi információk digitális rögzítése, megosztása és manipulálása új korszakot hozott a medicina számos területén. Ezen belül a digitális metszetek egyre nagyobb elfogadottságnak örvendenek oktatásban, kutatásban és bizonyos esetekben a rutin diagnosztikában is.

### V.1. A digitális mikroszkópia bevezetése az orvosegyetemi patológia oktatásba

Szem előtt tartva, hogy a digitális metszetek előnyei először az oktatásban jelentkeztek, nem meglepő, hogy ennek az új alkalmazásnak a hódító útja az osztálytermekből indult. Saját eredményeink is bizonyítják, hogy a digitális metszetek könnyen illeszthetők a kórszövettani oktatásba. Vizsgálataink továbbá kiemelik az emberi tényező fontosságát is abban, hogy egy új technika sikeressé válhasson, amit alátámaszt, ahogyan az oktatók *attitűdje* befolyásolta hallgatóik *attitűdjét* a digitális metszetekkel szemben. Annak érdekében, hogy megértsük a digitális mikroszkópia népszerűségét az oktatásban, szükséges megvizsgálnunk, milyen előnyei vannak a digitális metszeteknek a hagyományos üveglemezekkel szemben.

- Metszetek egyszerűbb kezelése – több száz vagy ezer üveglemez helyett digitális állományok használata.
- Oktatási eszközök standardizálása – minden hallgató azonos minőségű tananyaghoz fér hozzá.
- A metszeten való orientációt segítő elemek – tanulási fázisban kiemelkedő jelentőségűek.
- Több metszet egyidejű vizsgálatának lehetősége – normál és kóros területek összehasonlítása.
- Annotációk elhelyezése digitális metszeteken – oktatási segédanyagok csatolása a képi információ mellé.
- Távoli hozzáférés az oktatási anyaghoz – helyfüggetlen lehetőség a vizsgára való felkészüléshez.

Távolabbi kitekintésben vizsgálva a számítástechnika szerepét a medicinában, látjuk, hogy a modern egészségügyi ellátásban egyre nagyobb számban vannak jelen különböző informatikai eszközök. Ezeknek a használata a biztonságos betegellátást szem előtt tartva,

készség szintjévé kell váljon az orvosi társadalomban. Szükséges, hogy az orvosegyetemi képzésben helyet kapjanak ezen eszközök működését magyarázó, gyakorlati szempontokat figyelembe vevő oktatási egységek. Ehhez ki kell alakítani ezeknek a programoknak a saját kurrikulumbát, követelményrendszerét és infrastruktúráját. Speciális területeken, mint például radiológia, patológia, a posztgraduális képzésben megfontolandó a digitális képalkotás és képkezelés részletesebb tárgyalása, kötelezően választható államilag elismert, kreditpontos kurzusokon.

## V.2. A digitális mikroszkópia alkalmazása rutin szövettani diagnosztika során

Vizsgálataink során a teljes egészében digitális metszetek használatával kapott diagnosztikai pontosságot vizsgáltuk, összehasonlítva azt a hagyományos optikai mikroszkópos diagnosztikai eredményekkel. Eredményeink hasonlóak az irodalomban fellelhető vizsgálatok eredményeihez, amik elsősorban a minták eredetét és az esetleges téves digitális diagnózisok súlyosságát vizsgálták. Fentiek mellett, mi azt is vizsgáltuk, hogy ezeknek a hibáknak milyen összefüggése lehet a patológus tapasztalatával általában és különösen az adott szakterületen jelentkező tapasztalatával. Vizsgálataink alapján, a legfontosabb tényező a diagnosztikus pontosság tekintetében, digitális metszetek használatakor, a patológus adott területen való jártassága. Ezzel szemben, a szubjektív diagnosztikai biztonság szignifikáns negatív összefüggést mutatott a patológus években mért tapasztalatával. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a patológusok kora önmagában jelentős faktor abban a tekintetben, hogy mennyire fogadják vagy utasítják el a digitális mikroszkópia használatát.

Megkíséreltük a digitális mikroszkóp használatakor mutatózó összes diagnosztikai tévedést megtisztítani azoktól az esetektől, amiket a patológiai munkafolyamat megfelelő szervezésével elkerülhetőnek tartunk, így a biztonságos betegellátást nem veszélyeztetik. Az így szűkített eredmények is csak annak függvényében értékelhetőek, ha ismerjük az adott környezet rutinfolyamataiban jelentkező hibák arányát. Vizsgálatunkkor 27/306 esetben a konszenzus diagnózis felülírta az eredeti, optikai mikroszkóppal adott diagnózist. Fentiek ismeretében kijelenthetjük, hogy a diagnosztikai eltérések száma összevethető mind az optikai, mind a digitális diagnózisok esetében, konszenzus diagnózisokhoz viszonyítva, ami

tovább erősíti azt a nézetünket, hogy digitális mikroszkópos tévedéseink oka nem a technikai, hanem személyes, *intrinsic* faktorokban keresendő.

### V.3. Háromdimenziós szöveti rekonstrukciós vizsgálatok

Az egyik első tudományos munka a digitális metszetek előállításáról, amellett, hogy leírta ennek az újfajta képalkotásnak a módszerét, már gyomor tumorok 3D rekonstrukciójáról is beszámol. A munkát 1999-ben publikálták, évekkel azelőtt, hogy más csoportok felismerték volna a digitális metszetek alkalmazásának lehetőségét a 3D rekonstrukcióban. Az elmúlt években a digitális metszetek fejlődésével párhuzamosan és automata sorozatmetsző eszközök kifejlesztésével, egyre több tudományos cikk jelent meg a témában. Onozato és munkatársai a módszerrel tüdő adenocarcinomákat vizsgált, Wu és munkatársai colorectalis mintákon végzett vizsgálatokat. Paish és munkatársai az emlőtumorok nyirokcsomóátteteinek különböző növekedési mintázatait vizsgálták. Legújabbán pedig Roberts és munkatársai, az eddigi legnagyobb mintaszámú és legtöbb különböző eredetű szövet 3D rekonstrukcióját végezték digitális metszetek alkalmazásával a Leedsi Egyetemen.

Szövettani sorozatmetszetek felhasználása 3D képalkotásra ma két fontos problémába ütközik. Az egyik az, hogy a minták előállítása során az eredeti struktúrákat lebontjuk, a három dimenziós szövetekből először két dimenziós képek készülnek, amit követ a rekonstrukció. A folyamat során technikai nehézségekkel és a használt eszközök jellegéből adódó limitáló tényezőkkel kell szembenézni. Az előbbiekre tartozik a sorozatmetszés során keletkező szövet gyűrődés, szakadás, metszetről leúszás, torzió, festődési egyenetlenségek stb., az utóbbiak közé pedig az a sajátosság, hogy bár a szövettani metszetre, mint kétdimenziós tárgyra tekintünk, az valójában 3 dimenziós, a „z” koordinátában 3-6 mikrométer vastagsággal, amiben rejlő információk, a már valóban kétdimenziós képi, digitális leképezésnél elvesznek. A második, a 3D rekonstrukció gyakorlati kivitelezése szempontjából fontos tényező, hogy a teljes folyamat kifejezetten eszköz és időigényes. A vázolt nehézségek megkövetelik a kutatóktól, hogy minél pontosabban értékeljék a várható ráfordítás-haszon vonatkozást, mielőtt egy tudományos kérdés megválaszolásában a 3D rekonstrukció valamelyik módszerét választják.

A háromdimenziós szöveti rekonstrukciós vizsgálataink során pontos kísérletes módszert alkottunk a neointimális elváltozások súlyosságának felmérésére, krónikus allograftvasculopathia során, egérszív transzplantációs modellben. A transzplantáció után

eltávolított egérszív orientációja fontos lépés lenne a kísérletben, azonban ez legtöbbször lehetetlen feladat, a keresett érszakaszok szabad szemmel nem láthatóak, így a minta paraffinba ágyazása véletlenszerű. További feldolgozás során előfordulhat, hogy megfelelő keresztmetszetű koronária nem kerül a szövettani metszetekbe vagy a véletlenszerűen megtalált erek intima, „vastagságainak” a mérése pontatlanságokhoz vezet. Ahhoz, hogy pontos méréseket végezhessünk, a koronáriák valódi keresztmetszeteinek megjelenítése szükséges. Kidolgozott módszerünk, sorozatmetszetek alkalmazásával lehetőséget nyújt a „random” metszésbe kerülő erekről valódi keresztmetszetek leképezésére és a NI pontos számítására.

## VI. Következtetések

A doktori értekezés fő eredményei és új megfigyelései a következők:

- Magyarországon először alkalmaztuk sikeresen a digitális mikroszkópiát az orvosegyetemi patológia oktatásban.
- Létrehoztunk és fenntartunk egy digitális metszet adatbázist, ami a hallgatók számára ingyenesen és folyamatosan rendelkezésre áll patológiai tanulmányaik során.
- Bebizonyítottuk, hogy a scannelés hibái nem tehetőek felelőssé rossz diagnózisok felállításában, mivel ezek a képi hibák felismerhetők.
- Megállapítottuk, hogy a rutin diagnosztikai pontosságot leginkább befolyásoló tényező a patológusok egyes területeken mutatott tapasztalata.
- Sikeresen alkalmaztunk digitális metszeteket egy speciális probléma, az egér koronária rendszer elváltozásainak 3D-ban való megjelenítésére krónikus allograftvasculopathia (CAV) során.
- Megalkottuk és leírtuk a *neointimalis volumen index* fogalmát a krónikus allograftvasculopathia (CAV) súlyosságának számítására.



## VII. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

### VII. I. Az értekezés témájában megjelent közlemények

**Fónyad L**, Krenács T, Nagy P, Zalatnai A, Csomor J, Sápi Z, Pápay J, Schönleber J, Diczházi C, Molnár B. (2012) Validation of diagnostic accuracy using digital slides in routine histopathology. *Diagn Pathol*, 7:35.

**IF: 1,85**

**Fónyad L**, Gerely L, Cserneky M, Molnár B, Matolcsy A. (2010) Shifting gear higher--digital slides in graduate education--4 year experience at Semmelweis University. *Diagn Pathol*, 5:73.

**IF: 1,388**

Andocs G, Renner H, Balogh L, **Fonyad L**, Jakab C, Szasz A. (2009) Strong synergy of heat and modulated electromagnetic field in tumor cell killing. *Strahlenther Onkol*, 185(2):120-6.

**IF: 3,767**

Cserneky M, Szende B, **Fonyad L**, Krenacs T. Telepathology in Hungary. Könyvfejezet: In: Telepathology. (Ed: Kumar S). Springer-Verlag Berlin, (ISBN 978-3-540-85785-3), 2009:127-147.

**IF: -** (Könyvfejezet)

Krenacs T, Zsakovics I, Micsik T, **Fonyad L**, Varga VS, Ficsor L, Kiszler G, Molnar B. Digital microscopy – the upcoming revolution in histopathology teaching, diagnostics, research and quality assurance. Könyvfejezet: In *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education*, (Ed. A. Méndez-Vilas and J. Díaz), Formatex Research Center, Badajoz, Spain, Volume 2 (ISBN 13: 978-84-614-6190-5), 2010:965-977.

**IF: -** (Könyvfejezet)

## VII. II. Egyéb témában megjelent közlemények

Changchien YC, Tátrai P, Papp G, Sápi J, **Fónyad L**, Szendrői M, Pápai Z, Sápi Z. (2012) Poorly differentiated synovial sarcoma is associated with high expression of enhancer of zeste homologue 2 (EZH2). J Transl Med, 10:216.

**IF: 3,474**

Changchien YC, Haltrich I, Micsik T, Kiss E, **Fónyad L**, Papp G, Sápi Z. (2012) Gonadoblastoma: Case report of two young patients with isochromosome 12p found in the dysgerminoma overgrowth component in one case. Pathol Res Pract, 15;208(10):628-32.

**IF: 1,213**

Changchien YC, Katalin U, Fillinger J, **Fónyad L**, Papp G, Salamon F, Sápi Z. (2012) A challenging case of metastatic intra-abdominal synovial sarcoma with unusual immunophenotype and its differential diagnosis. Case Rep Pathol, 2012:786083.

**IF: -**

Balogh Z, Szemlaky Z, Szendroi M, Antal I, Pápai Z, **Fónyad L**, Papp G, Changchien YC, Sápi Z. (2011) Correlation between DNA ploidy, metaphase high-resolution comparative genomic hybridization results and clinical outcome of synovial sarcoma. Diagn Pathol, 6:107.

**IF: 1,638**